

## АССОЦИАЦИЯ ГАПЛОТИПА ФЕРТИЛЬНОСТИ HCD С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И РЕПРОДУКТИВНЫМИ КАЧЕСТВАМИ ГОЛШТИНСКИХ КОРОВ\*

**М.В. Позовникова**, кандидат биологических наук,  
**О.К. Васильева**, кандидат сельскохозяйственных наук,  
**О.В. Митрофанова**, кандидат биологических наук

*Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального научного центра животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, 196601, Санкт-Петербург, Пушкин, Московское ш., 55а  
E-mail: pozovnikova@gmail.com*

*Представлены результаты исследования коров голштинской породы на предмет носительства гаплотипа фертильности HCD (haplotype cholesterol deficiency), ассоциированного с гибелью плода на различных сроках пренатального и ранних сроках постнатального онтогенеза. Изучены хозяйственно-полезные признаки животных, несущих в своем генотипе дефект HCD. В выборку (n = 583) вошли животные 2007–2017 гг. рождения племенного хозяйства Ленинградской области. Проведена сравнительная оценка животных HCD<sup>+</sup> (носитель генетического дефекта дефицит холестерина) и HCD<sup>-</sup> (не носитель генетического дефекта дефицит холестерина) по показателям молочной продуктивности и репродуктивным качествам. Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из крови животных. Генотипы определяли методом полимеразной цепной реакции с использованием аллельспецифичных праймеров. Обнаружено, что 35 животных (6,0%) имели в своем генотипе мутантный аллель гена Apob. Эти коровы не уступали по племенной ценности по удою, процентному содержанию жира и белка своим сверстницам, свободным от изучаемого генетического дефекта. Коровы HCD<sup>+</sup> 2014 г. рождения отличались более высокими показателями содержания белка (3,29 ± 0,05%) в сравнении с коровами HCD<sup>-</sup> (3,17 ± 0,01%). Для плодотворного осеменения коров-носителей HCD, рожденных в 2013 г. (n = 11) и 2014 г. (n = 11), использовали меньше спермодоз, что значительно повлияло на сроки первого плодотворного осеменения. Коровы 2014 г. рождения, несущие в своем генотипе мутантный аллель гена Apob, имели меньшую продолжительность сервис-периода в сравнении со своими сверстницами. Использование коров HCD<sup>+</sup> не влияет на общую продуктивность и фертильность стад. Однако необходимо своевременно выявлять и регистрировать животных с положительным статусом по HCD<sup>+</sup>. Такой учет позволит уменьшить число носителей данного генетического дефекта в последующих поколениях.*

## ASSOCIATION OF HCD FERTILITY HAPLOTYPE WITH MILK PRODUCTION AND REPRODUCTIVE QUALITIES OF HOLSTEIN COWS

**Pozovnikova M.V., Vasileva O.K., Mitrofanova O.V.**

*Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, 196601, St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe sh., 55a  
E-mail: pozovnikova@gmail.com*

*The paper presents the results of studies of Holstein cows and first-calf heifers for carriage of the haplotype cholesterol deficiency (HCD) fertility haplotype associated with fetal death at various stages of prenatal and early postnatal ontogenesis. The economically useful traits of animals carrying the HCD defect in their genotype have been studied. The sample of studies (n = 583) included animals born in 2007–2017 of the breeding farm of the Leningrad region. A comparative assessment of HCD<sup>+</sup> (a carrier of a genetic defect, cholesterol deficiency) and HCD<sup>-</sup> (not a carrier of a genetic defect, cholesterol deficiency) animals was carried out in terms of milk production and reproductive qualities. The material for the study was DNA isolated from animal blood. Animal genotypes were determined by polymerase chain reaction using allele-specific primers. It was found that 35 animals (6.0%) had a mutant allele of the Apob gene in their genotype. These cows were not inferior in terms of breeding value in terms of milk yield, percentage of milk fat and milk protein to their peers who were free from the studied genetic defect. Cows HCD<sup>+</sup> 2014 differed in higher absolute indicators of the percentage of protein (3.29 ± 0.05%) in comparison with cows HCD<sup>-</sup> (3.17 ± 0.01%). For fruitful insemination of HCD cows born in 2013 (n = 11) and 2014 (n = 11), fewer sperm doses were used, which significantly influenced the timing of the first fruitful insemination. Cows born in 2014 individuals carrying the mutant allele of the Apob gene in their genotype had a shorter service period in comparison with their peers. The use of HCD<sup>+</sup> cows does not affect the overall performance and fertility of the herds. However, it is necessary to timely identify and register animals with a positive status for HCD<sup>+</sup>. Such accounting will reduce the number of carriers of this genetic defect in subsequent generations.*

**Ключевые слова:** дефицит холестерина, крупный рогатый скот, молочная продуктивность, фертильность, ген Apob, АС-ПЦР

**Key words:** cholesterol deficiency, cattle, milk production, fertility, Apob gene, AS-PCR

На протяжении последних 50 лет в Ленинградской области при использовании генофонда голштинской породы создана одна из лучших племенных баз молочного животноводства России. Современная популяция черно-пестрого скота со значительной долей кровности

по голштинам отличается высокой молочной продуктивностью. Отмечено, что генетический тренд у коров новой генерации 2002-2010 гг. рождения увеличивался от 93,6 кг до 382,4 кг молока в сравнении с продуктивностью базовой популяции [1]. Однако на фоне возрас-

\*Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России по темам Государственного задания АААА-А18-118021590138-1.

тания уровня показателей молочной продуктивности наблюдалось снижение воспроизводительных качеств коров [2], что в значительной степени связано с генетическими факторами [3].

В настоящее время зарегистрировано 12 гаплотипов фертильности голштинского скота (НН0-НН7, НСD, ННВ, ННС, ННD), ассоциированных с эмбриональной смертностью или гибелью телят в постнатальный период [4, 5]. Особое место в ряду рецессивных генетических дефектов занимает гаплотип дефицита холестерина (НСD, haplotype cholesterol deficiency). Причиной НСD является инсерция LTR (Long Terminal Repeats) эндогенного ретровируса типа ERV2-1 в пятом экзоне гена *ApoB* на ВТА 11. Вследствие чего происходит сдвиг рамки считывания, образование стоп-кодона и усечение 97% белка аполипопротеина В. В результате нарушения синтеза АРОВ происходит прекращение выведения хиломикрона из кишечных клеток и, как следствие, мальабсорбция холестерина [6].

Общая клиническая картина данного заболевания у телят впервые описана в 2016 г. [7]. У больных животных наблюдали выраженную задержку роста, видимое истощение при нормальном аппетите и потреблении корма, идиопатическую диарею, обезвоживание, ломкость и сухость шерстного покрова. Результаты клинического исследования крови выявляли лейкоцитоз и пониженный уровень гемоглобина, биохимический профиль отличался гипохолестеринемией, низким уровнем липопротеинов низкой плотности и жирорастворимых витаминов А и Е, гипокалиемией. Результаты патологоанатомического вскрытия телят показали изменения в кишечнике, характерные для идиопатической диареи, выраженную кахексию, признаки атрофии костного мозга. Гистологическими исследованиями отмечена атрофия адипоцитов в жировой ткани и ткани костного мозга. Животные с данными показателями нежизнеспособны и умирают или подвергаются эвтаназии. Как родоначальник мутации определен бык Maughlin Storm №5457798 [6]. По данным канадской молочной организации (CDN, Canadian Dairy Network) в настоящее время это самый распространенный генетический дефект, и его частота в голштинских стадах Канады в 2019 г. составила 14,3%.

Быстрым и эффективным способом снижения числа вредных рецессивных аллелей в геноме популяции является исключение быка-носителя генетического дефекта из системы искусственного осеменения. Но такая мера имеет и ряд негативных последствий, поскольку приводит к снижению генетического прогресса и уменьшению числа производителей в программах разведения. Американскими исследователями было показано, что в США использование знаменитого быка Pawnee Farm Arlinda Chief (1962 г. рождения), оказавшегося носителем гаплотипа НН1, увеличило прибыль от надоя молока на 25 миллиардов долларов, в тоже время экономические потери вследствие абортос составили 0,4 миллиарда долларов [8].

С расширением возможностей геномных исследований молочного скота список обнаруженных генетических дефектов постоянно увеличивается. Встает вопрос о возможности использования в стадах животных-носителей рецессивных аллелей. В связи с этим изучение хозяйственно-полезных признаков коров, несущих в своем генотипе дефект НСD, представляет научный и практический интерес.

Цель исследования – проанализировать встречаемость генетического дефекта НСD и провести сравнительную оценку выборки коров голштинской породы с

учетом статуса по НСD по показателям воспроизводства и молочной продуктивности.

**Методика.** Исследования проведены в 2018-2019 гг. в лаборатории молекулярной генетики Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала Федерального научного центра животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста (ВНИИГРЖ). Анализировали случайную выборку коров голштинской породы 2007-2017 гг. рождения (n = 583) из племенного хозяйства Ленинградской области.

Материалом для исследования послужила ДНК, выделенная из лейкоцитов крови. Забор крови проводили с использованием вакуумной системы Vacuette в пробирки с антикоагулянтом КЗЭДТА. Генотипы животных определяли методом полимеразной цепной реакции с использованием аллельспецифичных праймеров (АС-ПЦР). Последовательность праймеров (ООО «Бигль», г. Санкт-Петербург): прямой F1: 5'GGTGACCATCCTCTCTCTGC3' – обеспечивает амплификацию фрагмента 249 п. н., прямой F2: 5'CACCTTCCGCTATTCGAGAG3' – обеспечивает амплификацию фрагмента 436 п. н. при наличии вставки мобильного LTR-элемента в гене *ApoB* и общего обратного праймера R: 5'AGTGGAACCCAGCTCCATTA3' [9]. Реакцию проводили на амплификаторе Thermal Cycler C1000 (Bio-Rad, США) в режиме: денатурация 94 °C – 4 мин, 35 циклов в режиме 94 °C – 1 мин, отжиг праймеров 62 °C – 30 сек, элонгация при 72 °C – 1 мин, конечный этап синтеза 72 °C – 4 мин. Электрофоретическое разделение ампликонов проводили в 1,5%-ном агарозном геле с добавлением флуоресцентного красителя бромистого этидия и фотографировали при УФ-свете.

Для проведения сравнительной оценки по абсолютным показателям молочной продуктивности и репродуктивным качествам животные разделены на группы в зависимости от года рождения, чтобы исключить

**Табл. 1. Показатели молочной продуктивности коров с различным статусом по дефициту холестерина НСD**

Год рождения	Статус по НСD	n	Удой за первые 305 дней лактации, кг	Содержание жира, %	Содержание белка, %
<b>Показатели молочной продуктивности по годам</b>					
2012	HCD <sup>+</sup>	5	11037 ± 969	3,63 ± 0,18	3,12 ± 0,05
	HCD <sup>-</sup>	63	10523 ± 213	3,69 ± 0,02	3,17 ± 0,01
2013	HCD <sup>+</sup>	11	9314 ± 505	3,68 ± 0,08	3,14 ± 0,03
	HCD <sup>-</sup>	141	9983 ± 138	3,60 ± 0,02	3,15 ± 0,01
2014	HCD <sup>+</sup>	11	8928 ± 512	3,67 ± 0,09	3,29 ± 0,05**
	HCD <sup>-</sup>	192	9307 ± 102	3,69 ± 0,02	3,17 ± 0,01
2015	HCD <sup>+</sup>	6	9034 ± 847	3,23 ± 0,18	3,11 ± 0,05
	HCD <sup>-</sup>	89	9381 ± 162	3,41 ± 0,03	3,04 ± 0,01
<b>Племенная ценность</b>					
HCD <sup>+</sup>		34	-56,51 ± 77,05	-0,01 ± 0,02	0,01 ± 0,01
HCD <sup>-</sup>		519	24,09 ± 15,85	-0,001 ± 0,01	-0,002 ± 0,002

\*\* p < 0,01

Здесь и далее: HCD<sup>+</sup> – носитель генетического дефекта дефицит холестерина; HCD<sup>-</sup> – не носитель генетического дефекта дефицит холестерина

**Табл. 2. Показатели репродуктивных качеств коров различного статуса по HCD**

Год рождения	Статус по HCD	n	Возраст 1-го осеменения, мес	Возраст 1-го плодотворного осеменения, мес	Кратность осеменения перед 1-ым отелом	Кратность осеменения в 1-ую лактацию	Продолжительность сервис-периода, дн
2012	HCD <sup>+</sup>	5	16,2 ± 0,5	17,0 ± 0,7	1,4 ± 0,4	2,0 ± 0,3	136,6 ± 15,4
	HCD <sup>-</sup>	63	15,8 ± 0,2	16,3 ± 0,3	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1	138,1 ± 11,2
2013	HCD <sup>+</sup>	11	13,9 ± 0,1	14,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	2,3 ± 0,4	166,9 ± 32,6
	HCD <sup>-</sup>	141	14,1 ± 0,1	14,8 ± 0,1***	1,6 ± 0,1*	1,9 ± 0,1	162,3 ± 10,4
2014	HCD <sup>+</sup>	11	14,2 ± 0,2	14,3 ± 0,2	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,3	111,6 ± 15,7
	HCD <sup>-</sup>	192	14,1 ± 0,1	14,8 ± 0,1*	1,6 ± 0,1*	1,8 ± 0,1	172,0 ± 8,2***

\*\*\* p < 0,001; \* p < 0,05

влияние факторов окружающей среды (рацион кормления, климат), а также влияние быка-производителя. Индивидуальные данные взяты из племенных карточек формы 2МОЛ. Учитывали следующие показатели: удой за первые 305 дней 1-ой законченной лактации; процентное содержание жира и белка в молоке; возраст 1-го осеменения; возраст 1-го плодотворного осеменения; кратность осеменения перед первым отелом; кратность осеменения в 1-ую лактацию; продолжительность сервис-периода. Для комплексной оценки по признакам молочной продуктивности рассчитывали племенную ценность (ПЦ) коров по удою с помощью компьютерной программы «СГС-ВНИИГРЖ» [10], а также процентное содержание жира и белка. Определение связи между генотипами коров в зависимости от статуса HCD проводили путем вычисления достоверности разности между средними значениями с применением критерия Стьюдента. Статистическую обработку данных выполняли с использованием компьютерных программ Microsoft Excel и AtteStat.

**Результаты и обсуждение.** На предмет носительства дефицита холестерина HCD протестировано 583 животных, что составило 64,8% от маточного поголовья коров и 28,5% от всего поголовья в анализируемом хозяйстве. Результаты показали, что 35 голов (6,0%) имели в своем генотипе мутантный аллель гена *Arob*. Анализируя данные по частоте встречаемости HCD в стадах голштинского скота, разводимого в разных странах мира, отмечена значительная доля носительства – от 5 до 17% [11, 12]. Проведенные ранее исследования на примере другого хозяйства Ленинградской области также показали высокую частоту встречаемости HCD у маточного поголовья (7,76%), у телок в возрасте 3-16 месяцев, происходящих от быков гетерозиготных носителей HCD – 26,7%. Также выявлена одна телочка с гомозиготным генотипом по HCD [13, 14].

Сравнительную оценку по ряду хозяйственно ценных признаков проводили в выборках коров 2012-2015 гг. рождения с законченной 1-ой лактацией. Результаты показали, что коровы, несущие в своем генотипе мутантный аллель гена *Arob*, не уступали по показателям молочной продуктивности своим сверстницам, свободным от данного генетического дефекта (табл. 1). При этом в выборке коров 2014 г. рождения животные HCD<sup>+</sup> отличались достоверно более высокими показателями процентного содержания белка (p < 0,01). Подобное влияние было выявлено и ранее при анализе голштинского скота разных стран [15-17]. Такое превосходство может быть обусловлено тем, что зачастую быки-производители с высокой племенной ценностью могут нести в своем генотипе мутантный аллель, а интенсивное

их использование в системе искусственного осеменения России не только способствует генетическому прогрессу в популяции, но и приводит к эффекту генетической эрозии [4]. Отмечено, что наличие мутации в гене *Arob* не нарушает продуктивность у гетерозиготных голштинских коров [17].

Анализ репродуктивных качеств животных (табл. 2) показал, что для плодотворного осеменения коров-носителей HCD 2013 и 2014 гг.

рождения использовали меньше спермодоз (p < 0,001), что значительно влияло на сроки первого плодотворного осеменения (p < 0,001 и 0,05). Среди коров 2014 г. рождения животные, несущие в своем генотипе мутантный аллель гена *Arob*, имели более короткие сроки сервис-периода в сравнении со своими сверстницами (p < 0,001). По остальным показателям не было определено достоверных различий. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей [15, 16], где также показано отсутствие негативного влияния гаплотипа фертильности HCD на репродуктивные качества голштинских коров.

В проведенных ранее исследованиях [17] не выявлено каких-либо фенотипических особенностей у разновозрастных коров, в том числе и у содержания холестерина и триглицеридов в крови. Мы предположили, что положительный статус коровы по HCD не может быть причиной ее выбраковки из стада, но при подборе быка-производителя особенно важно учитывать статус обоих родителей по HCD для снижения риска рождения нежизнеспособного потомства.

Наличие мутантного аллеля гена *Arob* (дефицит холестерина, HCD) в геноме коров голштинской породы не оказывает негативного влияния на молочную продуктивность и репродуктивные качества животных. Но при воспроизводстве стада необходимо учитывать животных с положительным статусом по HCD<sup>+</sup> для контроля генетического дефекта в стадах и снижения риска рождения больных телят.

**Литература**

1. Племашов К.В., Лабинов В.В., Сакса Е.И., Смарагдов М.Г., Кудинов А.А., Петрова А.В. Использование метода *Blup Animal Model* в определении племенной ценности голштинизированного скота Ленинградской области // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2016. – № 1. – С. 2-5.
2. Сакса Е.И. Использование оценок быков-производителей по индексам плодovitости их дочерей в улучшении воспроизводительной способности животных голштинской породы // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2019. – № 8. – С. 14-18.
3. Терлецкий В.П., Дементьева Н.В., Тыщенко В.И., Митрофанова О.В., Крутикова А.А., Зозуля О.К., Бейшова И.С. Распространение летальных рецессивных мутаций у племенного крупного рогатого скота в Ленинградской области // *Ветеринария*. – 2016. – № 3. – С. 37-41.
4. Зиновьева Н.А. Гаплотипы фертильности голштинского скота // *Сельскохозяйственная биология*. – 2016. – Т. 5. – № 4. – С. 423-435.

5. Escoufflaire H. C., Mesbah-Uddin C., Barbat M., Boussaha A., Deloche M. C., Boichard D., Fritz S., Capitan A. A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle // *Journal of Dairy Science*. – 2020. – V. 103. – No 1. – P. 607-612.
6. Schütz E., Wehrhahn C., Wanjek M., Bortfeld R., Wemheuer W. E., Beck J., Brenig B. The Holstein Friesian Lethal Haplotype 5 (HH5) results from a complete deletion of TBF1M and cholesterol deficiency (CDH) from an ERV-(LTR) insertion into the coding region of APOB // *PloS ONE*. – 2016. – V. 11. – No 4. – e0154602.
7. Kipp S., Segelke D., Schierenbeck S., Reinhardt F., Reents R., Wurmser C., Pausch H., Fries R., Thaller G., Tetens J., Pott J., Haas D., Raddatz B.B., Hewicker-Trautwein M., Proios I., Schmicke M., Grünberg W. Identification of a haplotype associated with cholesterol deficiency and increased juvenile mortality in Holstein cattle // *Journal of Dairy Science*. – 2016. – V. 99. – No 11. – P. 8915-8931.
8. Segelke D., Täubert H., Reinhardt F., Thaller G. Considering genetic characteristics in German Holstein breeding programs // *Journal of Dairy Science*. – 2016. – V. 9. – No 1. – P. 458-467.
9. Kamiński S., Ruś A. Cholesterol Deficiency—new genetic defect transmitted to Polish Holstein-Friesian cattle // *Polish Journal of Veterinary Sciences*. – 2016. – V. 19. – No 4. – P. 885-887.
10. Сергеев С.М., Тулинова О.В. Селекционно-генетическая статистика – ВНИИГРЖ. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ РФ, №. 2015663613, 2015.
11. Menzi F., Besuchet-Schmutz N., Fragnière M., Hofstetter S., Jagannathan V., Mock T., Raemy A., Studer E., Mehinagic K., Regenscheit N., Meylan M., Schmitz-Hsu F., Drögemüller C. A transposable element insertion in APOB causes cholesterol deficiency in Holstein cattle // *Animal Genetics*. – 2016. – V. 47. – No 2. – P. 253-257.
12. Li Y., Fang L., Liu L., Zhang S., Ma Z., Sun D. The cholesterol-deficiency associated mutation in APOB segregates at low frequency in Chinese Holstein cattle // *Canadian Journal of Animal Science*. – 2018. – V. 99. – No 2. – P. 332-335.
13. Позовникова М.В., Лихачева Т.Е., Кудинов А.А., Лейбова В.Б., Дементьева Н.В. Мутация HCD у российских голштинизированных черно-пестрых коров не влияет на молочную продуктивность и содержание холестерина и триглицеридов в крови // *Сельскохозяйственная биология*. – 2018. – Т.53. – № 6. – С. 1142-1151.
14. Лихачева Т.Е., Позовникова М.В. Влияние гаплотипа «дефицит холестерина» (HCD) на интенсивность прироста живой массы телок голштинской породы // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. – 2019. – № 1 (75). – С. 166-168.
15. Wang M., Do D.N., Peignier C., Dudemaine P.L., Schenkel F.S., Miglior F., Zhao X., Ibeagha-Awemu E.M. Cholesterol deficiency haplotype frequency and its impact on milk production and milk cholesterol content in Canadian Holstein cows // *Canadian Journal of Animal Science*. – 2020. – <https://doi.org/10.1139/CJAS-2019-0068>.
16. Gross J.J., Schwinn A.C., Schmitz-Hsu F., Barenco A., Neuenschwander T.O., Drögemüller C., Bruckmaier R.M. The APOB loss-of-function mutation of Holstein dairy cattle does not cause a deficiency of cholesterol but decreases the capacity for cholesterol transport in circulation // *Journal of Dairy Science*. – 2019. – V. 102. – No 11. – P. 10564-10572.
17. Позовникова М.В., Лихачева Т.Е., Ширяев Г.В. Влияние мутации дефицит холестерина на репродуктивные качества коров голштинизированной черно-пестрой породы // *Генетика и разведение животных*. – 2018. – № 2. – С. 61-66.

Поступила в редакцию 25.07.20

После доработки 26.08.20

Принята к публикации 03.09.20